

BÚZALISZTEK ALBUMINFRAKCIÓINAK VIZSGÁLATA VÉKONYRÉTEGŰ POLIAKRILAMID GÉLBEN TÖRTÉNŐ IZOELEKTROMOS FOKUSZÁLÁSSAL

TÖRÖK ATTILÁNÉ*

A búzalisztek eltérő sütőipari tulajdonságai és a búzafehérje frakciók aránya, illetve összetétele közötti kapcsolatot már régóta kiterjedten vizsgálják. Feltételezik hogy a búzafehérjében jelenlevő albuminoknak jelentős szerepük van a lisztek minőségbeli különbözőségében [1]. Ezért számos vizsgálatot végeztek egymástól eltérő minőségű lisztek albuminfrakcióit illetően. Megállapítást nyert, hogy az albumin mennyiségének százalékos aránya nincs korrelációban a liszt minőségével [2]. Az albuminfrakciók keményítő gélelektroforézissel előállított képei sem mutattak lényeges eltérést egymástól [3].

Jelen munkában különböző búzalisztek albuminfrakcióit hasonlítjuk össze, izoelektromos fókuszálással történő elválasztás, és komponenseik izoelektromos pontjainak meghatározása révén. Erre igen jó lehetőséget nyújt az izoelektromos fókuszálás vékonyrétegű poliakrilamid gélben történő kivitelezése, mivel lehetővé teszi a különböző minták közvetlen összehasonlítását. Ezen túlmenően a gélréteg felületén felszinelektrodával meghatározott pH-gradiens segítségével az egyes komponensek izoelektromos pontjai megfelelő pontossággal határozhatók meg [4].

1. ANYAGOK, MÓDSZEREK

*Albumin minták***

Penjamo-62 (mexikói), Bezosztaja-1 (szovjet) és Tábori-66 (magyar) fajtaazonos búzák Brabender Senior Quadrumat laboratóriumi őrlőberendezéssel megőrölt liszt-mintáiból módosított Osborne eljárással [5] előállított albumin frakcióinak 1%-os desztillált vizés oldatát alkalmaztuk.

A vizsgálandó albuminfrakciók mellett egy-egy ismert izoelektromos pontú fehérjepreparátumot is alkalmaztunk, mint belső standardot [6], a gélben kialakuló pH-gradiens ellenőrzésére. Ezek a következők: bovine albumin ($pI=4,97$), human albumin ($pI=5,15$) 1%-os oldat formájában.

* Kémia Tanszék

** Az albumin mintákat Kovács Erzsébet (Élelmiszeripari Főiskola, Kémia Tanszék) bocsátotta a vizsgálatokhoz rendelkezésemre.

Vékony rétegű poliakrilamid gél készítése

A 2% hordozó amfolitot („Ampholine” LKB-Produkter, A. B., Sweden) tartalmazó, 5%-os poliakrilamid gélréteget a Labor MIM OE–210 típusú gélelektroforézises készülék 20×20 cm-es rétegtartó küvetájában készítettük riboflavin, mint fotokatalizátor jelenlétében. A géllapok készítéséhez 3–10 pH tartományú Ampholine-t alkalmazunk.

Izoelektromos fókuszálási eljárás

Az izoelektromos fókuszálást gélelektroforézises készülékben (Labor MIM OE–210), platinaelektrodok között végeztük. Az anódteret 1%-os foszforsavval, a katódteret 1%-os etilén-diamin oldattal töltöttük meg. Az áramhidat Whatman 3 MM szűrőpapír réteggel alakítottuk ki. A vizsgálandó mintákat az anódos oldalon alkalmaztuk.

Az izoelektromos fókuszálást 220 V feszültség alkalmazásával (40 mA kezdeti áramerősség) végeztük, 4 °C-os térben. A fókuszálási idő 18 óra volt.

A pH-gradiens meghatározása

A pH-gradiens meghatározását azonnal a fókuszálás után végeztük, közvetlenül a gél felszínén, lapos üvegmembránnal ellátott, kombinált felszínelektrodával (Radelkisz OP–801). A gélréteget mm-papírra helyezve a pH-t az anód és katód közötti távolság mentén cm-enként meghatároztuk, a gél három különböző sávjában. Az azonos távolsághoz tartozó pH értékek átlagolásával kapott értéket az anódtól való távolság függvényében ábrázolva kaptuk a gélrétegben kialakult pH-gradienst. A pH-gradiens anódhoz viszonyított helyzetét az alkalmazott belső standardok ismert izoelektromos pontjai alapján korrigáltuk.

Fehérjefestés

Az elválasztott fehérjesávok fixálása, valamint az Ampholine komponenseinek eltávolítása céljából 10%-os, majd 5%-os triklórecetsavval mostuk a géllapot szobahőmérsékleten. A triklórecetsav eltávolítását metanol:jégetet:víz=45:9:46 arányú elegyének cserélésével végeztük, pH=4 kémhatás eléréséig.

A fehérjefestést Coomassie Brilliant Blue R–250 0,05%-os, fenti oldószerkeletben való oldatával végeztük, 2 órán át. A háttér festékmentesítését ugyanazon oldószerkelet cserélésével hajtottuk végre. A géllap eredeti méretét 7%-os ecetsav oldatba helyezve állítottuk be.

Értékelés

A megfestett fehérjesávok izoelektromos pontjait az anódtól való távolságuk megmérésével a pH-gradiens alapján állapítottuk meg.

2. EREDMÉNYEK ÉS MEGBESZÉLÉS

Az izoelektromos fókuszálás után meghatározott pH-gradiens menete közelítőleg lineáris volt. Több lapon elvégzett izoelektromos fókuszálás egybevágó eredménye szerint a kialakuló pH-gradiens tartománya nem terjed ki az alkalmazott Ampholine üvegén gyárilag feltüntetett tartományra (pH=3–10). Ez azonban nem jelentett zavaró körülményt, mivel az alkalmazott minták komponensei a kialakult pH-gradiens tartományán belül helyezkedtek el.

Az értékelést az eredeti géllapról végeztük. A Penjamo—62 mintánál nyolc, a Bezosztaja—1 mintánál három, a Tábori—66 mintánál hat kiértékelhető zónát nyertünk. A zónák izoelektromos pontjait az 1. táblázat tartalmazza. A táblázat három elválasztás eredményeinek átlagértékeit tünteti fel, amelyek között az eltérés $\pm 0,06$ pH egységen belül volt.

A kapott izoelektromos pont értékek alapján megállapíthatjuk, hogy a három albumin mintában előfordulnak azonos izoelektromos pontú komponensek, de néhány fő komponens, valamint a mikroheterogén zónák izoelektromos pontjai tekintetében a minták eltérnek.

1. TÁBLÁZAT

Vékonyrétegű poliakrilamid gélben izoelektromos fókuszálással meghatározott izoelektromos pont (pI) átlagértékek, 18 C°-on

Penjamo—62 búzaliszt albumin	Bezosztaja—1 búzaliszt albumin	Tábori—66 búzaliszt albumin
5,15	5,18	5,15
5,26	5,30	5,30
5,35		5,50
5,50		5,50
5,60		5,98
6,00		6,55
6,58	6,55	
7,55		7,70

Mindhárom albumin mintát jellemzik az 5,15 és 5,30 közötti, valamint a 6,55 körüli izoelektromos ponttal rendelkező komponensek. A Bezosztaja-1 búzaliszt albuminjából az 5,5 és 6,0 izoelektromos pontú sávok, valamint a 6,55 feletti izoelektromos pontú komponensek hiányoznak, míg a másik két mintában megtalálhatók.

A kapott eredmények alapján megállapíthatjuk, hogy a magas analitikai feloldóképességgel rendelkező izoelektromos fókuszálás részletesebb képet ad a fehérjemintákat alkotó komponensekről, mint egyéb módszerek (pl. elektroforézis). Az elválasztott komponensek izoelektromos pontjaik által történő jellemzése újabb adatokat szolgáltat a vizsgált lisztminták fehérjeinek egzakt összehasonlításához, ezáltal a tulajdonságaik közötti összefüggések megismeréséhez.

IRODALOM

1. *Pence, J. W.*: Cereal Sci. Today 7, 178. (1962)
2. *Maes, E. E. A.*: Cereal Sci. Today 11, 200. (1966)
3. *Elton, G. A. H.*, *Ewart, J. A. D.*: Sci. Food Agr. 13, 62 (1962)
4. *Vesterberg, O.*: Biochim. Biophys. Acta 257, 11 (1972)
5. *László, R.*, Élelmiszerkémia gyakorlatok 35, Budapest (1968)
6. *Bours, J.*: Science Tools 20, 2 (1973).

STUDY OF ALBUMIN FRACTIONS OF WHEAT FLOURS BY ISOELECTRIC FOCUSING IN THIN-LAYER POLYACRYLAMIDE GEL

É. Török

The albumin fractions of various wheat flours are compared by separation by isoelectric focusing, and by determination of the isoelectric points of their components. Direct comparison with the thin-layer technique shows that the albumin fractions studied are characterized by bands with isoelectric points between 5.15 and 5.30 and at about 6.5, but the samples differ as regards the isoelectric points of some main components and the microheterogeneous zones.

UNTERSUCHUNG DER ALBUMINFRAKTIONEN VON WEIZENMEHLSORTEN MITTELS ISOELEKTRISCHER FOCUSSIERUNG IN DÜNNSCHICHT- POLYAKRYLAMID GEL

É. Török

Es werden die Albuminfraktionen verschiedener Weizenmehlsorten durch Trennung mittels isoelektrischer Focussierung und Bestimmung der isoelektrischen Punkte ihrer Komponenten verglichen. Die mit Hilfe der Dünnschichttechnik durchgeführte direkte Vergleichstellung zeigt, dass die untersuchten Albuminfraktionen durch Banden mit einem isoelektrischen Punkt zwischen 5,15 und 5,30, sowie um 6,5 charakterisiert sind, dass aber hinsichtlich einiger Hauptkomponenten sowie der isoelektrischen Punkte der mikroheterogenen Zonen die Proben abweichen.

АНАЛИЗ АЛЬБУМИНОВОЙ ФРАКЦИИ ПШЕНИЧНОЙ МУКИ ИЗОЭЛЕКТРИЧЕСКИМ ФОКУСИРОВАНИЕМ

Е. Терек

Автор сравнивает альбуминовые фракции различных сортов пшеничной муки посредством разложения на отдельные компоненты методом изоэлектрического фокусирования и определения изоэлектрической точки компонентов. Непосредственные сравнения, проведенные с применением тонкослойной техники, показывают, что исследуемую альбуминовую фракцию характеризуют полосы с изоэлектрической точкой в пределах от 5,15 до 5,39, а также полосы с изоэлектрической точкой около 6,5, но в отношении нескольких основных элементов, а также изоэлектрических точек микрогетерогенных зон пробы различны.